

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

С. Э. Ржеусский

ВАЛИДАЦИЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,
г. Витебск, Республика Беларусь

Целью настоящей работы была разработка и валидация методики количественного определения наночастиц серебра в водных растворах методом спектрофотометрии.

В качестве объекта исследования использовали раствор коллоидного серебра, представляющий собой прозрачную слабоокрашенную жидкость, обладающий агрегационной и седиментационной устойчивостью. Определение содержания наночастиц серебра в водных растворах проводили на регистрирующем спектрофотометре Specord 250.

В результате валидирована методика, позволяющая определять концентрацию наночастиц серебра в водных растворах, являющаяся специфичной по отношению к ионной форме металла. Коэффициент корреляции в уравнении линейной регрессии составляет 0,9996, пересечение с осью Y – 1,36 %. Относительное стандартное отклонение в тесте «повторяемость» для растворов с диапазоном концентраций 1,5–10 мкг/мл не превышает 1,70 %, а правильность определения находилась в диапазоне 97,1–102,7 %.

Ключевые слова: наночастицы серебра, спектрофотометрия, валидация, специфичность, линейность, прецизионность, правильность.

ВВЕДЕНИЕ

На рубеже XX–XXI веков аптечный ассортимент пополнился значительным количеством изделий медицинского назначения, косметических средств, биологически активных добавок к пище, содержащих наночастицы серебра. Однако до сих пор остается нерешенным вопрос с анализом данных средств. Для этого предлагаются электрохимический [1, 2], рентгенофлуоресцентный [3], потенциометрический [4], титриметрический методы [5], но все они предполагают в процессе пробоподготовки перевод наночастиц в ионную форму. Таким образом можно определить содержание в растворе ионов, а не первоначальное содержание наночастиц. Оборудования для проведения нанодиагностики фармацевтической субстанции, которое бы позволило определить содержание наночастиц (электронный микроскоп, лазерный дифрактометр с соответствующей чувствительностью), в контрольно-аналитических лабораториях и на большинстве фармацевтических предприятий нет.

Целью настоящей работы явилась валидация спектрофотометрической методики количественного определения наночастиц серебра в водных растворах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали раствор коллоидного серебра, представляющий собой прозрачную слабоокрашенную жидкость. Входящие в ее состав наночастицы серебра обладали агрегационной и седиментационной устойчивостью.

Определение содержания наночастиц серебра в водных растворах проводили на регистрирующем спектрофотометре Specord 250 по следующей методике: в мерной посуде с использованием воды P готовили рабочие растворы наночастиц серебра. Спектры поглощения измеряли в диапазоне длин волн от 320 до 600 нм с шагом 1 нм, содержание наночастиц серебра определяли при длине волны 401 нм. Все определения проводили относительно воды P в кювете с толщиной слоя 1 см. Каждое измерение проводили трижды, после чего рассчитывали среднее арифметическое из трех значений.

Методику определения наночастиц серебра в водном растворе валидировали по показателям «специфичность», «линейность», «повторяемость», «правильность» и «диапазон применения» согласно ТКП 432-2012 (02041) [6].

Специфичность методики изучали, снимая спектр поглощения опытного раствора, образцов наночастиц других металлов той же концентрации и раствора нитрата серебра.

Определение линейности методики проводили для 6 уровней содержания наночастиц: 1,5–10 мкг/мл. Повторяемость ($n = 6$) и правильность ($n = 3$) изучали на 6 образцах водных растворов с разными концентрациями наночастиц в указанном диапазоне.

Диапазон применения устанавливали исходя из того, что валидируемая методика имеет приемлемую степень линейности, прецизионности и правильности при ана-

лизе образцов с количественным содержанием наночастиц в диапазоне валидируемой методики. Использовали результаты из следующих тестов: избирательность, линейность, прецизионность, правильность.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью компьютерной программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для доказательства специфичности методики были сняты спектры поглощения растворов наночастиц серебра, золота и нитрата серебра (рисунок 1).

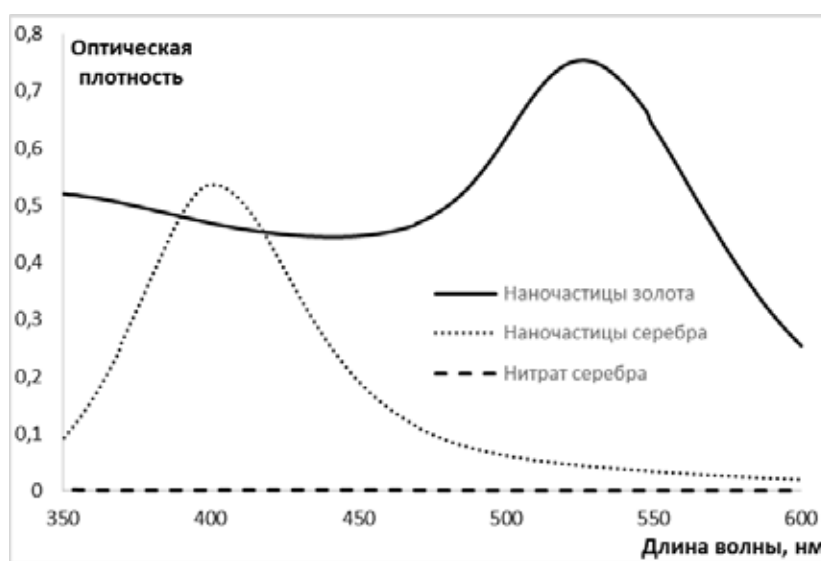


Рисунок 1. – Спектры поглощения растворов наночастиц серебра, золота и нитрата серебра

Показано, что наночастицы серебра и золота имеют максимумы поглощения при разных длинах волн. В исследуемой области нитрат серебра не обладает спектрофотометрической активностью.

Определено, что максимум спектра поглощения растворов серебра со средним размером наночастиц $6,3 \pm 1,8$ нм составляет 401 ± 1 нм в диапазоне концентраций 1,5–20 мкг/мл. Таким образом, для дальнейших исследований была выбрана длина волны, при которой наблюдается максимум спектра поглощения изучаемой субстанции, – 401 нм (рисунок 2).

При исследовании линейности методики количественного определения наночастиц серебра установлено, что график

зависимости оптической плотности растворов от содержания наночастиц представляет собой прямую линию в диапазоне концентраций 1,5–10 мкг/мл (рисунок 3).

Определено, что коэффициент корреляции в уравнении линейной регрессии составляет 0,9996 (при норме не менее 0,999), пересечение градуировочной прямой с осью Y – 1,36 % (при критерии приемлемости не более 3,0 %). Установлено, что отклонения найденных концентраций наночастиц серебра от теоретически рассчитанного содержания составляют 0,30–2,78 % (таблица 1).

Таким образом, методика количественного определения наночастиц серебра в растворе является линейной.

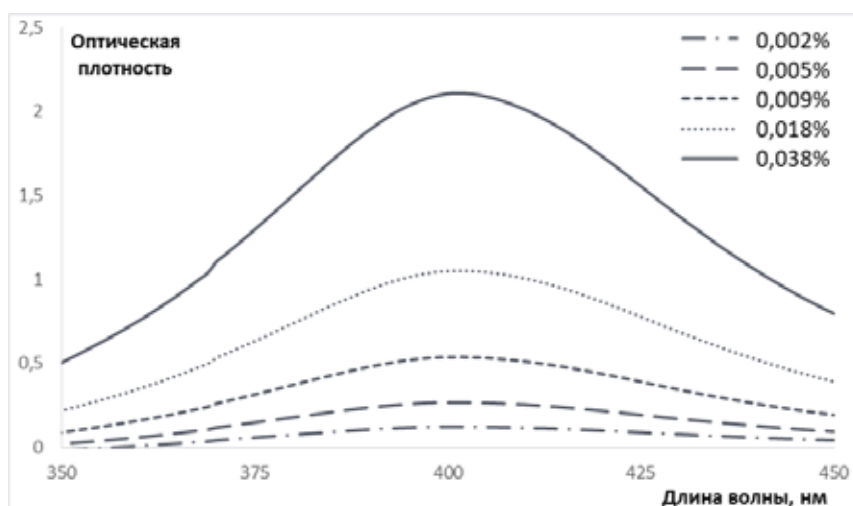


Рисунок 2. – Спектры поглощения растворов наночастиц серебра со средним размером наночастиц $6,3 \pm 1,8$ нм в диапазоне концентраций 0,002–0,038 %

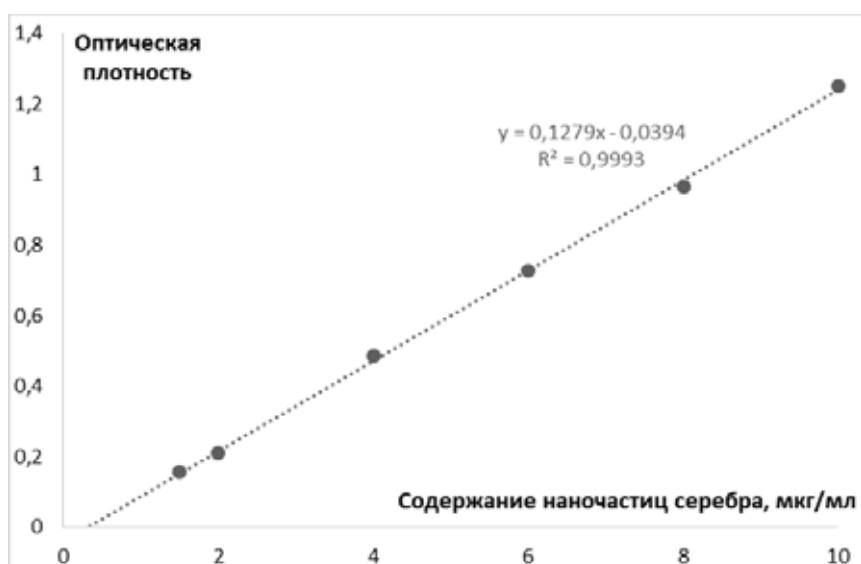


Рисунок 3. – Зависимость оптической плотности растворов от содержания наночастиц серебра

Таблица 1. – Отклонения экспериментальных данных от прямой при оценке линейности методики количественного определения наночастиц серебра в водных растворах

Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	Отклонение точек от градуировочной прямой, %
10,00	10,09	0,91
8,00	7,86	1,76
6,00	5,98	0,30
4,00	4,10	2,40
2,00	1,94	2,78
1,50	1,53	1,72

В процессе определения прецизионности методики были приготовлены 6 растворов в 6-и повторениях с концентрациями от 1,5 до 10 мкг/мл. Установлено, что для всех концентраций стандартное от-

клонение между растворами составляло от 0,06 % до 1,70 %, что соответствует требованиям Государственной фармакопеи Республики Беларусь (таблица 2).

При определении правильности мето-

дики количественного определения наночастиц серебра в водном растворе методом «введено-найденно» установлено, что в диапазоне концентраций от 1,5 до 10 мкг/мл найденные значения находились в пределах 97,1–102,7 % от теоретиче-

ского содержания наночастиц в растворе, а среднее значение составляло 97,2–102,4 %, что соответствует требованиям Государственной Фармакопеи Республики Беларусь для спектрофотометрического определения.

Таблица 2. – Результаты исследования прецизионности и правильности методики количественного определения наночастиц серебра в водных растворах

Теоретическая концентрация раствора, мкг/мл	RSD, %	Найденные значения содержания наночастиц серебра, %	Среднее содержание наночастиц серебра, %
10	1,7	99,7–102,1	100,9
8	0,9	97,6–98,9	98,2
6	0,1	99,6–99,8	99,7
4	0,5	102,1–102,7	102,4
2	0,2	97,1–97,3	97,2
1,5	0,1	101,7–101,8	101,7

Следовательно, методика количественного определения наночастиц серебра в водных растворах является прецизионной и правильной.

Диапазон применения методики количественного определения наночастиц серебра в водных растворах, составляющий от 1,5 до 10 мкг/мл, устанавливали исходя из того, что валидируемая методика имеет приемлемую степень линейности, прецизионности и правильности при анализе образцов с количественным содержанием наночастиц в указанном диапазоне концентраций.

Установлено, что методика является робастной при изменении температуры исследуемого раствора в диапазоне 15–25 °С. Его хранение в течение 3 часов не оказывало влияние на результаты определения наночастиц серебра ($p < 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Валидирована спектрофотометрическая методика количественного определения наночастиц серебра в водных растворах, являющаяся специфичной по отношению к ионной форме металла. Установлено, что разработанная методика по всем валидационным показателям соответствует требованиям ТКП и Государственной фармакопеи Республики Беларусь. Коэффициент корреляции в уравнении линейной регрессии составляет 0,9996, пересечение с осью Y – 1,36 %. Относительное стандартное отклонение в тесте повторяемость для растворов с диапазоном концентраций 1,5–10 мкг/мл не превышает

1,70 %, а правильность определения находилась в диапазоне 97,1–102,7 %, среднее значение составляло 97,2–102,4 %.

Определен диапазон применения методики, составляющий 1,5–10 мкг/мл. Установлено, что методика является робастной при изменении температуры рабочего раствора от 15 до 25 °С и при его хранении до 3 часов.

SUMMARY

S. E. Rzhеussky
VALIDATION

OF SPECTROPHOTOMETRIC QUANTITATIVE DETERMINATION METHOD OF SILVER NANOPARTICLES IN AQUEOUS SOLUTIONS

The aim of this work was the development and validation of quantitative determination method of silver nanoparticles in aqueous solutions by spectrophotometry.

The object of the study was colloidal silver solution which is transparent slightly colored liquid with aggregation and sedimentation resistance. Determination of silver nanoparticles content in aqueous solutions was carried out on a Specord 250 recording spectrophotometer.

As a result the procedure making it possible to determine silver nanoparticles concentration in aqueous solutions being specific towards the ionic form of the metal has been developed. The correlation coefficient in the linear regression equation is 0,9996, the intersection with the Y axis is 1,36 %. Relative standard deviation in the repeatability test for

solutions with concentration range of 1,5–10 µg/ml does not exceed 1,70 %, and the determination accuracy was in the range of 97,1–122,7 %.

Keywords: silver nanoparticles, spectrophotometry, validation, specificity, linearity, precision, accuracy.

ЛИТЕРАТУРА

1. Разработка вольтамперометрического определения железа и серебра для оценки степени деградации наночастиц на их основе / Г. Б. Слепченко [и др.] // Известия Томского политехнического университета. – 2011. – № 3. – С. 46–49.

2. Электрохимический метод определения концентрации наночастиц серебра и золота в живых клетках / Ю. А. Сунцова [и др.] // Ученые записки Казанского университета. – 2012. – Том 153, кн. 3. – С. 105–115.

3. Юсупов, Р. А. Методика выполнения измерений концентрации серебра в технологических водах предприятия / Р. А. Юсупов, С. А. Бахтеев, И. Р. Гатиятуллин // Вестник Казанского технологического университета. – 2011. – № 19. – С. 306–308.

4. Шумар, С. В. Потенциометриче-

ское определение серебра с использованием математической модели процесса / С. В. Шумар // Известия Томского политехнического университета. – 2012. – № 3. – С. 116–119.

5. Государственная фармакопея Республики Беларусь. В 3 т. Т. 3. Контроль качества фармацевтических субстанций / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Молодечно; Типография «Победа», 2009. – 728 с.

6. Производство лекарственных средств. Валидация методик испытаний: ТКП 432-2012 (02041). – Введ. 29.12.2012. – Минск : Департамент фармацевтической промышленности Министерства здравоохранения Республики Беларусь, 2012. – 21 с.

Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,
г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,
УО «Витебский государственный ордена
Дружбы народов медицинский университет»,
кафедра организации и экономики
фармации с курсом ФПК и ПК,
тел. раб.: +8 0212 60 14 08,
Ржеусский С.Э.

Поступила 18.12.2018 г.

Е. А. Дикусар¹, С. К. Петкевич¹, С. Г. Стёпин², В. И. Поткин¹

8,16-ДИЗАМЕЩЕННЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ 2,3,4,5,8,10,11,12,13,16-ДЕКАГИДРО-3,3,11,11-ТЕТРАМЕТИЛАКРИДИНО[4,3-с]АКРИДИН-1,9-ДИОНА. СООБЩЕНИЕ 1

¹Институт физико-органической химии НАН Беларуси, г. Минск

² Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет, г. Витебск, Республика Беларусь

Проблема истощения ресурса эффективных антимикробных лекарственных средств является одной из самых острых в современной медицине. Среди замещенных производных бензоакридинов обнаружены вещества, обладающие анальгетическим, антиаллергическим, антиферментным и антимикробным действием. Поэтому разработка простых и универсальных методов синтеза сложных молекул бензоакридинового ряда является актуальной задачей для современной синтетической органической химии.

В данной статье представлены результаты исследований по разработке методики одностадийного синтеза 8,16-дизамещенных производных 2,3,4,5,8,10,11,12,13,16-декагидро-3,3,11,11-тетраметилакридино[4,3-с]акридин-1,9-диона, полученных каскадной трехкомпонентной циклизацией 1,5-диаминонафталина, замещенных бензальдегидов ванилинового ряда и димедона. Циклизацию проводили кипячением исходных компонентов, взятых в стехиометрических соотношениях 1 : 2 : 2, в бутаноле в течение 3-5 ч. Выход целевых соединений составлял 45–55%. Конфигурации